



УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП

ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ

Катедра за прехранбена технологија и преработка на анимални производи

Зорица Лелова

**ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ОРГАНСКИ И НЕОРГАНСКИ КИСЕЛИНИ ВО ЦРВЕНИ
ВИНА СО КАПИЛАРНА ЕЛЕКТРОФОРЕЗА**

-МАГИСТЕРСКИ ТРУД-

Штип, јуни 2019 година

Комисија за оценка и одбрана

Ментор: проф. д-р Виолета Иванова-Петропулос

Земјоделски факултет

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип

Член: доц. д-р Билјана Балабанова

Земјоделски факултет

Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип

Член: проф. д-р Марина Стефова

Природно-математички факултет

Универзитет „Кирил и Методиј“ - Скопје

Датум на одбрана: _____

Датум на промоција: _____

ПОСВЕТА ИЛИ БЛАГОДАРНОСТ

Овој труд го посветувам и голема благодарност упатувам до драгоцената личност, на која ѝ должам за безрезервната и безусловна поддршка, за огромната мотивација, восхит, задоволство и ентузијазам за здобивањето на моето досегашно знаење и целосното надоградување кое го стекнав, а тоа е мојата менторка проф. д-р Виолета Иванова-Петропулос.

Исто така сакам да изразам посебна благодарност до доц. д-р Билјана Балабанова и проф. д-р Марина Стефова за нивато учество и насоките од своето знаење кои ги ми дадоа, како и времето кое го одделија за целосно да се комплентира овој магистерски труд. Голема благодарност упатувам до професорите од Хемиски факултет во Братислава, Словачка, а тоа се проф. д-р Мариан Масар и проф. д-р Роберт Бодор кои ми помогна за престој во нивните лаборатории и реализирање на експерименталниот аналитички дел од овој труд.

Изразувам голема благодарност до сите останати професори, асистенти, соработници, особено, на директорот на производство на ВВ „Тиквеш“, г. Звонко Трајков, кој покрај тоа што е непрекорен експерт во својата професија, воедно е и најголем поддржувач и мотиватор на сите млади луѓе и колеги од винаријата Тиквеш. Благодарност до сопствениците на винаријата, до соработниците од Земјоделскиот институт, д-р Клемен Лисјак и д-р Андреја Ванзо. Со нив, во текот на моето работење, стекнав нови, корисни знаења, искуства и практика.

Значајна, драга и доживотна посвета упатувам на моето семејство, мојот татко Златко и мајка Емилија, како и мојот брат и колега Ангел, кои целосно ме поддржуваа во надминувањето на сите бариери, препреки и предизвици, а со тоа и во оставрувањето на посакуваната цел, односно изработка и одбрана на овој магистерски труд.

ТРУДОВИ ПРОИЗЛЕЗЕНИ ОД МАГИСТЕРСКИОТ ТРУД

Објавени трудови во меѓународни списанија со импакт-фактор:

1. **Lelova, Z.**, Ivanova-Petropulos, V., Masar, M., Lisjak, K. (2018). Optimization and validation of a new capillary electrophoresis method with conductivity detection for determination of small anions in red wines. *Food Analytical Methods*, 11. 1457-1466. ISSN 1936-9751, (**Impact factor = 2,245**).

Објавени трудови на научни манифестации:

1. **Lelova, Z.**, Ivanova, V., Masar, M., Lisjak, K., Bodor, R. (2017). Optimization and validation of a capillary electrophoresis method for small-anions measurement in red wine. 17th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, 2-8 July 2017, Ohrid, R. Macedonia.

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ОРГАНСКИ И НЕОРГАНСКИ КИСЕЛИНИ ВО ЦРВЕНИ ВИНА СО КАПИЛАРНА ЕЛЕКТРОФОРЕЗА

Краток извадок

Целта за изработка на овој магистарски труд беше да се разработи метод за определување на мали молекули (органски и неоргански киселини) во вино. Анализите се спроведени на седумнаесет црвени вина, произведени од неколку сорти на црвено грозје, вклучувајќи: вранец, каберне совинјон и мерло, од различни географски области (Демир Капија, Кавадарци, Неготино и Велес) во Република Северна Македонија. Беа определени соли на органски киселини, и тоа: оксалат, тартарат, малат, малонат, пируват, сукцинат, ацетат, цитрат и лактат. Беа определени и неорганските анјони, сулфати и фосфати. За оптимизирање и валидирање на методот беше применета инструментална техника - капиларна електрофореза со кондуктометриски спроводлив детектор (CE-CD). Беа определени следниве валидациони параметри: линеарност, лимит на детекција (LOD), лимит на квантификација (LOQ), точност, прецизност, повторливост и репродуцибилност. Добиените вредности на овие параметри потврдуваат дека методот е соодветен за анализа на органски киселини во вино, тој е брз (време на анализа пократко од 5 min), се добива добра линеарност на калибрационите криви ($R^2 > 0,992$) за анализираните аналити, како и добра репродуцибилност на миграциските времиња ($RSD < 1,5 \%$). Од добиените резултати беше заклучено дека сите вина содржат органски киселини во соодветни и препорачани нивоа на концентрација, а со тоа вината се заштитени од микробиолошка и хемиска оксидација. Највисока концентрација на винска киселина беше забележана кај вина од сортата вранец, тоа е параметар кој ја одделува и издвојува оваа сорта од другите изучувани.

Клучни зборови: вино, органски киселини, неоргански анјони, валидација, капиларна електрофореза

DETERMINATION OF ORGANIC AND INORGANIC ACIDS IN RED WINES BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Abstract

The aim of this master's thesis was to develop a method for the determination of small molecules (organic and inorganic acids) in wines. In seventeen red wines produced from red grape varieties Vranec, Cabernet Sauvignon and Merlot, from different geographical areas (Demir Kapija, Kavadarci, Negotino and Veles) from the Republic of Macedonia, certain salts of organic acids have been identified, such as oxalate, tartrate, malate, malonate, pyruvate, succinate, acetate, citrate and lactate and inorganic anions (sulphate and phosphates). For the optimization and validation of the method, a capillary electrophoresis instrumental instrument with a conductometric conductive detector (CE-CD) was applied. The following validation parameters were determined: linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), accuracy, precision, repeatability and reproducibility. The obtained values of these parameters confirm that the method is suitable for the analysis of organic acids in the wine. The proposed method is suitable for fast, accurate and simultaneous determination of organic acids and inorganic anions (sulphate and phosphate), which were determined for the first time in local Macedonian varieties. From the obtained bases and advanced results, it was concluded that all wines contain organic acids at appropriate and recommended levels of concentration, and thus the wines are protected from microbiological and chemical oxidation. Vrana's wines contained the highest concentration of tartaric acid, which is a parameter that separates and distinguishes this variety from other scholars.

Keywords: wine; organic acids; inorganic anions; validation; capillary electrophoresis.

СОДРЖИНА:

1. ВОВЕД	1
1.1. Производство на вино	2
1.2. Хемиски состав на вино	5
1.3. Органски киселини кои потекнуваат од грозјето	13
1.3.1. Винска (тартаратна) киселина	14
1.3.2. Јаболкова киселина	15
1.3.3. Лимонска киселина	16
1.4. Органски киселини кои се формираат во текот на алкохолна ферментација	17
1.4.1. Оцетна киселина	18
1.4.2. Пирогроздова киселина	19
1.4.3. Килибарна киселина	19
1.4.4. Млечна киселина	20
1.5. Неоргански киселини присутни во форма на неоргански анјони	21
1.5.1. Сулфурна киселина	21
1.5.2. Фосфорна киселина	22
1.6. Капиларна електрофореза (СЕ)	23
1.6.1. Капиларни методи на електросепарација	31
2. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	35
3. МЕТОДИ НА ИСТРАЖУВАЧКАТА РАБОТА.....	36
3.1. Хемикалии и стандарди	36
3.2. Грозје	36
3.3. Вино за анализа	37
3.4. Основни хемиски анализи	38
3.5. Анализа со капиларна електрофореза со кондуктометриски детектор (СЕ-CD).....	38
3.6. Параметри за калибрација и валидација	39
3.7. Статистичка анализа	39

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	41
4.1. Основни хемиски параметри на вината	41
4.2. Анализа на вината со примена на капиларна електрофореза поврзана со кондуктометриски детектор (CE-CD)	45
4.3. Валидација на методот за определување на органски и неоргански киселини со CE-CD	48
4.4. Анализа на црвени вина со примена на капиларна електрофореза со кондуктометриски детектор (CE-CD)	55
4.5. Карактеристична векторска анализа	68
5. ЗАКЛУЧОК	71
6. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА	72